

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای حرفه ای داروسازی

عنوان:

بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژنی آنزیم CYP2D6 در شهر اردبیل

اساتید راهنما:

دکتر شهاب بهلولی

دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور:

دکتر سعید صادقیه اهری

نگارندگان:

علی سراج یعقوبی

بهزاد فرهنگی کمی آباد

توحید ممتاز شیخ احمد

سال تحصیلی: خرداد ۱۳۹۸

شماره پایان نامه: د-۳

تقدیم به:

خدایی که آفرید

جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را، عشق را  
و به کسانی که عشقشان را در وجودمان دمید

و به پدر و مادر عزیزمان

به پاس تعبیر عظیم انسانی شان از کلمه ایثار و از خود  
گذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان  
که در این روزگاران، بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و  
سرگردانی و ترس در پناهِشان به شجاعت می گراید  
و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش  
نمی کند...

قدردانی می کنیم از

خداوند متعال، که توکل بر او گره گشای کارمان بود  
جناب آقای دکتر شهاب بهلولی، که حامی بزرگ پروژه  
بودند

جناب آقای دکتر سید سعید حسینی اصل، که یاورمان  
بودند

جناب آقای دکتر سعید صادقیه اهری، که هم اندیش  
مسیرمان بودند

همه اساتید و داوران محترم،

کادر محترم دانشکده داروسازی اردبیل،

کادر محترم آزمایشگاه ژنتیک

و همه عزیزانی که در این مسیر یاری رسانمان بودند...

## چکیده

بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژنی آنزیم CYP2D6 در شهر اردبیل

**مقدمه:** ژن و آنزیم CYP2D6 از اعضای مهم خانواده سایتوکروم های کبدی بوده که نقش مهمی در متابولیسم بسیاری از داروها از جمله ضد افسردگی ها، ضد جنون ها، داروهای قلبی و ضد دردها دارد. از آنجایی که این ژن بسیار پلی مورفیک می باشد و تفاوت در میزان بیان این ژن می تواند موجب تفاوت تعیین کننده ای در میزان اثرات دارویی و بروز عوارض جانبی شود، مطالعه پلی مورفیسم ژنی آنزیم مذکور اهمیت دو چندان می یابد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژنی CYP2D6 در شهر اردبیل می باشد.

**مواد و روش ها:** پس از نمونه گیری خونی و استخراج DNA با استفاده از کیت MN، قطعات حاوی اسنیپ های (SNPs) مهم با بهره گیری از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده، با استفاده از روش PCR تکثیر یافت و پس از تایید تکثیر قطعه مورد نظر از طریق ژل الکتروفورز، توالی یابی برای تشخیص الل های مهم مورد نظر با روش Sanger Sequencing صورت گرفت.

**بحث و نتایج:** فراوانی فنوتیپی CYP2D6 در شهر اردبیل شامل ۸۹/۷۰٪ متابولیزه کننده نرمال (EM)، ۴/۴۱٪ متابولیزه کننده متوسط (IM)، ۴/۴۱٪ متابولیزه کننده ضعیف (PM) و ۱/۴۷٪ فنوتیپ ناشناخته پیش بینی شد. نتایج این مطالعه می تواند به عنوان راهنما در تجویز داروها با دوز مناسب مورد استفاده قرار بگیرد.

**کلید واژه:** پزشکی شخصی، فارماکوژنومیک، CYP2D6، اردبیل، پلی مورفیسم ژنی، EM، IM، PM

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل ۱: مقدمه	۱
۱-۱. بیان مسئله	۲
۱-۱-۱. پزشکی شخصی	۲
۱-۱-۲. اهمیت متابولیسم	۴
۱-۱-۳. انواع فازهای متابولیکی	۴
۱-۱-۴. آنزیم های CYP450	۵
۱-۱-۵. آنزیم CYP2D6	۷
۱-۲. اهمیت موضوع	۹
۱-۲-۱. اهمیت بالینی درمان با سوبستراهای CYP2D6	۹
۱-۲-۲. پلی مورفیسم ژنی CYP2D6 و داروهای اعصاب	۹
۱-۲-۳. CYP2D6 و درمان اختلالات قلب و عروق	۱۲
۱-۳. سابقه انجام طرح و بررسی متون	۱۳
۱-۴. اهداف پژوهش	۱۴
۱-۴-۱. هدف کلی طرح (General Objective)	۱۴
۱-۴-۲. اهداف اختصاصی (Specific Objectives)	۱۴
۱-۴-۳. اهداف کاربردی	۱۵
۱-۵. فرضیات (Hypothesis) یا سوالات پژوهش	۱۵

## فصل ۲: مواد، دستگاه ها و روش ها

۱۶

- ۱-۲. نوع مطالعه ..... ۱۷
- ۲-۲. جامعه آماری، روش نمونه گیری ..... ۱۷
- ۳-۲. روش گردآوری اطلاعات ..... ۱۷
- ۴-۲. مواد و تجهیزات مورد استفاده ..... ۱۷
- ۱-۴-۲. مواد، وسایل و دستگاه های مورد نیاز ..... ۱۷
- ۵-۲. روش کار ..... ۲۰
- ۱-۵-۲. استخراج DNA با کیت MN ..... ۲۰
- ۲-۵-۲. آماده سازی پرایمر ..... ۲۱
- ۳-۵-۲. آماده سازی نمونه PCR و انجام PCR ..... ۲۲
- ۴-۵-۲. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ..... ۲۵
- ۶-۲. ملاحظات اخلاقی ..... ۲۵
- ۱-۶-۲. کد اخلاق ..... ۲۵
- ۲-۶-۲. ملاحظات اخلاقی مطالعه ..... ۲۶
- ۷-۲. روش تجزیه و تحلیل داده ها ..... ۲۶

## فصل ۳: نتایج

۲۸

- ۱-۳. نتایج PCR نمونه ها برای قطعات مختلف ..... ۲۹
- ۲-۳. نتایج حاصل از تعیین توالی ..... ۲۹

## فصل ۴: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

۶۶

- ۱-۴. بحث ..... ۶۷
- ۲-۴. نتیجه گیری ..... ۷۲
- ۳-۴. پیشنهادات ..... ۷۳
- ۱-۳-۴. پیشنهادات و توصیه ها برای بهبود و ادامه کار ..... ۷۳
- ۲-۳-۴. محدودیت های مطالعه ..... ۷۳

منابع..... ۷۴

چکیده انگلیسی..... ۸۰



## فهرست علائم، نشانه ها و اختصارات

**CYP450:** Cytochrome P450

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**SNP:** Single Nucleotide Polymorphism

**DNA:** Deoxyribonucleic Acid

**FDA:** Food and Drug Administration

**ADR:** Adverse Drug Reactions

**EPS:** Extrapyrarnidal Symptoms

**ADHD:** Attention Deficit Hyperactivity Disorder

**CNS:** Central Nervous System

**MI:** Myocardial Infarction

**DMEs:** Drug Metabolizing Enzymes

**PM:** Poor Metabolizer

**IM:** Intermediate Metabolizer

**EM:** Extended Metabolizer

**UM:** Ultra-rapid Metabolizer

**TDM:** Therapeutic Drug Monitoring

**UTR:** Untranslated Region

**TAE buffer:** mixture of Tris base, acetic acid, and EDTA

## فهرست جدول ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲. مواد لازم جهت استخراج DNA .....	۱۷
جدول ۲-۲. مواد مورد استفاده در PCR .....	۱۸
جدول ۳-۲. مواد لازم جهت الکتروفورز DNA .....	۱۸
جدول ۴-۲. وسایل مورد نیاز جهت نگهداری نمونه ها .....	۱۸
جدول ۵-۲. وسایل لازم جهت استخراج DNA و انجام واکنش PCR .....	۱۹
جدول ۶-۲. وسایل لازم جهت تهیه ژل و انجام الکتروفورز .....	۱۹
جدول ۷-۲. دستگاه های مورد استفاده .....	۲۰
جدول ۸-۲: توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در بررسی های PCR .....	۲۱
جدول ۹-۲: مقادیر مواد لازم برای آماده سازی نمونه های PCR از هر پرایمر .....	۲۲
جدول ۱۰-۲: برنامه PCR برای پرایمر ۱ .....	۲۳
جدول ۱۱-۲. برنامه PCR برای پرایمر ۲ .....	۲۳
جدول ۱۲-۲. برنامه PCR برای پرایمر ۳ .....	۲۳
جدول ۱۳-۲. برنامه PCR برای پرایمر ۴ .....	۲۴
جدول ۱۴-۲. برنامه PCR برای پرایمر ۵ .....	۲۴
جدول ۱۵-۲. برنامه PCR برای پرایمرهای ۶ .....	۲۴
جدول ۱۶-۲. اندازه محصولات PCR (bp) .....	۲۵
جدول ۱-۳: موقعیت واریانت ها و اسنپ های مشاهده شده .....	۶۳
جدول ۱-۴. ژنوتیپ و فنوتیپ CYP2D6 مطالعه مربوط به سال ۲۰۱۵ .....	۶۸
جدول ۲-۴. ژنوتیپ و فنوتیپ CYP2D6 مطالعه مربوط به سال ۲۰۰۹ .....	۶۸
جدول ۳-۴: فراوانی الل ها .....	۷۰
جدول ۴-۴: نوع ژنوتیپ و فنوتیپ نمونه های مورد بررسی .....	۷۱
جدول ۵-۴: فراوانی فنوتیپ های بدست آمده .....	۷۲

## فهرست نمودارها و شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: عوامل موثر در پاسخ به دارو .....	۳
شکل ۱-۲: انواع فازهای متابولیسمی .....	۵
شکل ۱-۳: چرخه CYP450 در اکسیداسیون دارو .....	۶
شکل ۱-۴: توزیع نسبی ایزوفرم های مختلف CYP450 .....	۶
شکل ۱-۵: نمای سه بعدی آنزیم CYP2D6 .....	۸
شکل ۱-۳: نتایج تعیین توالی نوکلئوتیدی در موقعیت های مختلف .....	۲۹

